Aus dem Pharmakologischen Institut der Hansischen Universität
im Universitätskrankenhaus Eppendorf (Direktor: Prof. Dr. Keeser)

# Untersuchungen über eine neue Mikromethode zur quantitativen Blutzuckerbestimmung

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der zahnärztlichen Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät der Hansischen Universität

vorgelegt von

REINHARD LORBACH
aus Eschwege/Werra

Hamburg 1937

Referent: Dozent Dr. med. habil. H. A. Oelkers

Korreferent: Prof. Dr. Keeser

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität zu Hamburg

---

DRUCK: A. PREILIPPER, WERKE UND DISSERTATIONEN / HAMBURG 11

MEINEN LIEBEN ELTERN!

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548109_0059

Wenn man die ungeheure Zahl von Arbeiten, die bisher auf dem Gebiete des Zuckerstoffwechsels vorliegen, überblickt, sieht man, daß die meisten von ihnen aus den Jahren nach der Entdeckung des Insulins durch Banting und Best[1] stammen. Die Kontrolle der technischen Darstellung und die Wertbestimmung dieses Hormons geschieht im allgemeinen durch Auswertung am normalen, nüchternen Kaninchen, indem festgestellt wird, in welchem Maße das zu prüfende Präparat den Blutzucker dieses Tieres herabsetzt. Dies war nur möglich, weil man bereits damals über exakte Mikromethoden zur Bestimmung des Blutzuckerspiegels verfügte. Der Kaninchentest war die Grundlage aller später veröffentlichten chemischen und physiologischen Arbeiten über Insulin bzw. insulinähnliche Stoffe und deren Einfluß auf den Zuckerstoffwechsel. Die Methoden zur Bestimmung des Blutzuckers sind aber nicht nur in wissenschaftlicher und technischer, sondern auch in klinischer Hinsicht von großer Bedeutung, denn durch sie wird z. B. erst die Einstellung von Diabetikern mit Insulin, die ja unter steter Kontrolle des Blutzuckerspiegels geschehen muß, ermöglicht.

Die erste Mikromethode zur Bestimmung des Blutzuckers, die größere Bedeutung gewann und noch heute verwendet wird, war wohl die von Bang[2] angegebene. Sie beruht auf folgendem Prinzip: Durch den im Blut enthaltenen Zucker — worunter hier nicht nur Zucker allein, sondern alle reduzierend wirkenden Substanzen verstanden werden — wird eine Kupfersulfatlösung reduziert; das gebildete Kupferoxydul läßt man auf Jodsäure einwirken, wobei ein der vorhandenen Kupferoxydulmenge äquivalenter Betrag dieser Säure reduziert wird. Dieser wird nach Zugabe von Jodkalium in saurer Lösung titrimetrisch mit Natriumthiosulfatlösung ermittelt. Die Methode hat durch ihre Genauigkeit, geringen Materialverbrauch und die Schnelligkeit ihrer Durchführbarkeit eine neue Epoche in der Diabetesforschung eingeleitet.

Später veröffentlichten Folin und Wu[3] eine neue Methode. Bei ihr reduziert der im Blut enthaltene Zucker Kupfertartrat in alkalischer Lösung. Durch zugesetzte Phosphormolybdänsäure wird das ausgeschiedene Kupferoxydul aufgelöst und oxydiert, während die Phosphormolybdänsäure unter Bildung einer blauen Färbung reduziert wird. Die Stärke der Färbung wird gegen die mit einer in gleicher Weise behandelten Standardzuckerlösung erhaltene Färbung verglichen. Von Folin[4] wurde später

[1] Banting und Best: J. Lab. clin. Med. 7, 251, 464 (1922); Amer. J. Physiol. 62, 162, 559 (1922).
[2] J. Bang: Der Blutzucker, S. 26. Wiesbaden (1913).
[3] Folin u. Wu: J. biol. Chem. 41, 367 (1920).
[4] Folin: J. biol. Chem. 77, 421 (1928).

noch eine zweite Methode angegeben, bei welcher der Zucker mit alkalischer Ferricyankaliumlösung oxydiert und das entstandene Kaliumferrocyanid nach Zugabe von Ferrisalz kolorimetrisch als Berlinerblau bestimmt wird.

Von anderen Methoden zur Blutzuckerbestimmung seien hier noch die von Lewis und Benedict[5], Benedict[6], Fujita und Iwatake[7] und Rappaport und Pistiner[8] angegebenen Verfahren erwähnt*. Sie haben jedoch alle für die Verwendung im klinischen Laboratorium keine größere Bedeutung erlangt, so daß hier auf sie nicht näher eingegangen werden soll.

Die zur Zeit am meisten angewandte Methode ist die von Hagedorn und Jensen[10] angegebene. Bei ihr wird das zu untersuchende Blut durch kolloidales Zinkhydroxyd enteiweißt; das eiweißfreie Filtrat wird mit einer alkalischen Kaliumferricyanidlösung erhitzt, das gebildete Ferrocyanid als Zinkferrocyanid ausgefällt und das überschüssige Ferricyanid in saurer Lösung jodometrisch bestimmt. Der hierbei sich abspielende Vorgang wird durch folgende Formel wiedergegeben:

| $2\ H_3\ [Fe(CN)_6]$ | $+\ 2\ HJ$ | $=\ H_4\ [Fe(CN)_6]$ | $+\ J_2$ |
|---|---|---|---|
| Ferricyanwasserstoffsäure | Jodwasserstoffsäure | Ferrocyanwasserstoffsäure | Jod |

Das nach dieser Gleichung in Freiheit gesetzte Jod wird mit Natriumthiosulfatlösung nach der Formel

| $2\ Na_2S_2O_3$ | $+\ J_2$ | $=\ Na_2S_4O_6$ | $+\ 2\ NaJ$ |
|---|---|---|---|
| Natriumthiosulfat | Jod | Natriumtetrathionat | Natriumjodid |

titrimetrisch bestimmt. Die Methode ermöglicht die Bestimmung des in 0,1 ccm Blut vorhandenen Blutzuckers.

Wenn diese Methode auch verhältnismäßig billig und einfach auszuführen ist — Vorteile, die ihr zu der weiten Verbreitung, die sie im klinischen Laboratorium gefunden hat, verholfen haben — ist sie doch nicht ohne Nachteile.

So liefert sie nur bei der Analyse von Lösungen, die bis zu etwa 350 mg% Zucker enthalten, exakte Werte; höhere Blutzuckerwerte können mit ihr nicht mehr genau erfaßt werden, da bei Lösungen, die über 350 mg% Zucker enthalten, der Ferricyanidverbrauch dem Zuckergehalt nicht mehr direkt proportional ist. (Rappaport[12]). Dadurch können u. U. er-

[5] Lewis u. Benedict: J. biol. Chem. *20*, 61 (1915); *34*, 20 (1918).
[6] Benedict: J. biol. Chem. *76*, 457 (1928).
[7] A. Fujita u. D. Iwatake: Biochem. Ztschr. *242*, 43 (1931).
[8] F. Rappaport u. R. Pistiner, Mikrochemie *15*, 111 (1934).
* Die kolorimetrische Methode nach Crecelius-Seifert[11] ist nur für orientierende Versuche von Bedeutung, während sie für Reihenuntersuchungen nicht brauchbar ist.
[10] H. C. Hagedorn u. B. N. Jensen: Biochem. Ztschr. *135*, 46 (1923); *137*, 32 (1923).
[11] Crecelius und Seifert: Münch. med. Wschr. *1928*, 1301.
[12] Rappaport, F.: Mikrochemie des Blutes. Wien *1935*, S. 135.

hebliche Fehler bei der Analyse des Blutes von schweren Diabetikern entstehen. Gerade in solchen Fällen erscheint es aber häufig sehr wünschenswert, genaue Blutzuckerwerte zu erhalten, um eine exakte Einstellung des Patienten auf Insulin durchführen zu können. Es wurde zwar von Mosonyi[13] eine Modifikation der Blutzuckerbestimmung nach Hagedorn und Jensen angegeben, die es gestattet, bis zu etwa 700 mg% Zucker zu bestimmen. Da jedoch die von diesem Autor empirisch aufgestellte Tabelle zur Bestimmung des Zuckergehaltes nicht mit derjenigen von Hagedorn und Jensen übereinstimmt, und von ihm eine anders zusammengesetzte Ferricyanidlösung verwendet wird, müßte man außer der Ferricyanidlösung von Hagedorn und Jensen auch diese noch vorrätig halten, was immerhin Fehlermöglichkeiten in sich schließt. Eine größere Verbreitung hat die Modifikation von Mosonyi nicht gefunden.

In jüngster Zeit veröffentlichten Miller und van Slyke[14] eine neue Mikromethode zur Blutzuckerbestimmung, die geeignet erscheint, diese Nachteile zu beseitigen. Bei ihr wird das Blut in eine saure Cadmiumsulfatlösung gegeben und nach Zusatz einer bestimmten Menge Natronlauge durch das gebildete Cadmiumhydroxyd nach dem Vorgange von Fujita und Iwatake (l. c.) enteiweißt. Der Überschuß an Cadmiumsulfat wird durch Zugabe von Bariumcarbonat entfernt:

| $CdSO_4$ | $+ BaCO_3$ | $= CdCO_3$ | $+ BaSO_4$ |
|---|---|---|---|
| Cadmium-sulfat | Barium-carbonat | Cadmiumcarbonat (unlöslich) | Bariumsulfat (unlöslich) |

Das Filtrat wird mit einem großen Überschuß von Kaliumferricyanidlösung erhitzt; das bei der Oxydation des im Filtrat vorhandenen Blutzuckers sich bildende Ferrocyanid wird mit Cerisulfatlösung titrimetrisch bestimmt:

$$\underset{\text{Ferrocyanwasserstoffsäure}}{2\,H_4[Fe(CN)_6]} + \underset{\text{Cerisulfat}}{2\,Ce(SO_4)_2} = \underset{\text{Ferricyanwasserstoffsäure}}{2\,H_3[Fe(CN)_6]} + \underset{\text{Cerosulfat}}{Ce_2(SO_4)_3} + H_2SO_4$$

Als Reduktions-Oxydations-Indikator benutzen die Autoren einen organischen Farbstoff „Setopalin C". Da uns die Methode von Miller und van Slyke infolge der weiter unten näher angegebenen experimentellen Bedingungen sehr große Vorzüge gegenüber den bisher bekannten Blutzuckerbestimmungsmethoden zu haben schien, haben wir in der vorliegenden Arbeit einen Vergleich dieser Methode mit der heute in klinischen Laboratorien wohl am meisten verwendeten Methode von Hagedorn und Jensen durchgeführt.

## EXPERIMENTELLER TEIL.

Zur Analyse gelangten Standardzuckerlösungen und Blutproben von Kaninchen. Bei der Durchführung der Untersuchungen nach den beiden

---

[13] L. Mosonyi: Bioch. Ztschr. *238*, 95 (1931).
[14] B. F. Miller u. D. D. van Slyke: J. biol. Chem. *114*, 583 (1936).

Methoden hielten wir uns im allgemeinen genau an die Angaben der Autoren, jedoch wurden die Lösungen bzw. Blutproben nicht, wie von ihnen angegeben, mit 0,1 ccm fassenden Mikropipetten abgemessen, sondern die Proben wurden nach Bang[15] nach Einsaugen in Papierblättchen (C. Schleicher u. Schüll, Nr. 553) auf der Torsionswage abgewogen und dann analysiert. Obwohl diese Blättchen frei von Glukose und anderen reduzierenden Substanzen sein sollen, ergab sich doch immer wieder in neben den eigentlichen Analysen laufenden Blindversuchen, daß die in ihnen und auch in den verwendeten Reagenzien enthaltenen reduzierenden Verunreinigungen immerhin 20 bis 25 mg% (Hagedorn-Jensen) und 30 bis 40 mg% (Miller-van Slyke) Zucker entsprachen.

Im folgenden seien nun die beiden Methoden geschildert, wie sie von uns ausgeführt wurden:

### Methode nach Hagedorn und Jensen.

*Verwendete Reagenzien:*

1. 0,1 n-Natronlauge.
2. 0,45%ige Zinksulfatlösung.
3. n/200 Kaliumferricyanidlösung. 1,65 g Kaliumferricyanid und 10,6 g wasserfreies Natriumcarbonat werden in 1 Liter Wasser gelöst.
4. Zinksulfat-Kochsalzlösung. 10 g Zinksulfat und 50 g Natriumchlorid werden in 160 ccm Wasser gelöst.
5. 2,5%ige Kaliumjodidlösung. 40 ccm Lösung (4) werden mit 10 ccm 12,5%iger wässeriger Kaliumjodidlösung gemischt.
6. 3%ige Essigsäure.
7. Stärkelösung. 1 g Stärke/100 ccm gesättigte Natriumchloridlösung.
8. n/200 Natriumthiosulfatlösung.
9. n/200 Kaliumjodatlösung.

Die in Papierblättchen in der oben geschilderten Weise aufgesogenen und gewogenen Proben werden in Reagensgläser gebracht, die 1 ccm n/10 Natronlauge (1) und 5 ccm 0,45%ige Zinksulfatlösung (2) enthalten. Die Proben werden 3 Minuten lang in einem siedenden Wasserbade erhitzt; nach dem Erkalten filtriert man durch reine, mit heißem Wasser ausgewaschene Watte in die üblichen weiten Reagensgläser und wäscht dreimal mit je 4 ccm Wasser aus. Nun fügt man zu jeder Probe genau 2 ccm Kaliumferricyanidlösung (3) und erhitzt im siedenden Wasserbade 15 Minuten lang. Nach dem Abkühlen gibt man zu jeder Probe 2 ccm Kaliumjodid-Zinksulfatlösung (5), 2 ccm Essigsäure (6) und 3 bis 5 Tropfen Stärkelösung (7). Man titriert nun mit n/200 Natriumthiosulfatlösung (8) in üblicher Weise bis zum Verschwinden der blauen Farbe*. In genau derselben Weise werden Blindwerte behandelt, bei denen man die Menge

[15] J. Bang: zit. nach L. Pincussen, Mikromethodik 5. A. *1930*, S. 79. Vgl. auch K. Dresel u. H. Rothmann: Bioch. Ztschr. *146*, 538 (1924).

* Der genaue Titer der zur Titration verwendeten Natriumthiosulfatlösung wird festgestellt, indem man genau 2 ccm der als Urtiter verwendeten n/200 Kaliumjodatlösung (9) mit 2 ccm Essigsäure (6) sowie 2 ccm Kaliumjodidlösung (5) versetzt und nach Zusatz von 3 bis 5 Tropfen Stärkelösung (7) mit der zu verwendenden Natriumthiosulfatlösung bis zum Verschwinden der Blaufärbung titriert.

der in den Papierblättchen und Lösungen enthaltenen reduzierenden Substanzen feststellt. Die Zuckerwerte, welche der verbrauchten Menge n/200 Natriumthiosulfatlösung entsprechen, werden aus der von Hagedorn-Jensen angegebenen Tabelle abgelesen, wobei natürlich die für die Blindwerte erhaltenen „Zucker"mengen abgezogen werden.

### Methode nach Miller und van Slyke.

*Verwendete Reagenzien:*

1. Alkalische Ferricyanidlösung. 5,00 g Kaliumferricyanid und 10,6 g wasserfreies Natriumcarbonat werden in 1 Liter Wasser aufgelöst. (Das Kaliumferricyanid [z. Anal.] wird vor der Verwendung aus Wasser umkristallisiert und nach der Methode von Folin[17] von Kaliumferrocyanid befreit.) Die Lösung ist vor Licht und Staub geschützt nach Angaben der Autoren mehrere Monate haltbar.
2. 18n Schwefelsäure. 465 ccm reine, konzentrierte Schwefelsäure (d = 1,84) werden mit 535 ccm Wasser gemischt.
3. Indikator. 100 mg Setopalin C* werden in 100 ccm Wasser gelöst. Die Lösung kann mehrere Monate benutzt werden, jedoch empfiehlt es sich, bei den ersten Versuchen mit der Methode frische Indikatorlösung zu verwenden, da mit ihr der Endpunkt der Titration schärfer zu erkennen ist.
4. 0,1377n Cerisulfatlösung. (Stammlösung.) Etwa 110 g wasserfreies Cerisulfat werden mit 35 ccm konzentrierter Schwefelsäure und dann mit 35 ccm Wasser versetzt. Das Gemisch wird unter Umrühren und Zugaben kleiner Portionen Wasser erhitzt, bis sich praktisch alles Cerisulfat gelöst hat. Dann wird filtriert, abgekühlt und die Lösung auf 1 Liter verdünnt. Die Titerstellung der Lösung geschieht mit Mohrschem Salz: Es wird durch Auflösen von 39,214 g reinsten Mohrschen Salzes ($Fe[NH_4]_2[SO_4]_2 \cdot 6\,H_2O$) in 200 bis 300 ccm Wasser, Zugabe von 25 ccm 18n Schwefelsäure und Auffüllen auf 1 Liter eine 0,1n-Lösung dieses Salzes hergestellt. 15 ccm der Cerisulfatlösung werden in einem Becherglas mit 50 ccm Wasser verdünnt, mit 3 ccm 18n Schwefelsäure versetzt und mit der 0,1n-Lösung von Mohrschem Salz titriert, bis die Farbe des Cerisulfats fast verblaßt ist. Dann gibt man 8 Tropfen der Setopalin C-Lösung zu und titriert weiter bis zum Umschlag von goldbraun in hellgelb. Die Berechnung des Titers der Cerisulfatlösung und Verdünnung auf den gewünschten Titer (0,1377n) geschieht wie üblich. Die Cerisulfatstammlösung ist in dunkler Flasche mindestens 40 Wochen lang beständig; 1 Liter reicht für etwa 50 000 Bestimmungen aus.
5. Verdünnte Cerisulfatlösung zur Blutzuckertitration. 2 ccm der Stammlösung (4) werden in einem 100 ccm Meßkolben mit 5 ccm 18n Schwefelsäure versetzt, worauf man mit Wasser bis zur Marke auf-

[17] O. Folin: J. biol. Chem.. 77, 421 (1928).

* Das verwendete Setopalin C wurde uns in liebenswürdiger Weise von der Firma J. R. Geigy, Basel zur Verfügung gestellt.

füllt. (Das verwendete dest. Wasser muß möglichst frei von reduzierenden Substanzen sein. Wir verwendeten stets redestilliertes Wasser.) Bei Raumtemperatur nimmt der Titer innerhalb von 6 Stunden um etwa 0,5% ab. Wird diese Lösung bei Zimmertemperatur aufbewahrt, muß sie deshalb täglich frisch bereitet werden; bei Aufbewahrung bei 0° ist sie eine Woche lang haltbar. Der Titer dieser Lösung wurde von den Autoren zu 0,002754n gewählt, weil bei Anwendung von 0,1 ccm Blut 0,01 ccm dieser Lösung 1 mg% Blutzucker entspricht.

6. Cadmiumsulfatlösung. 13,0 g reines Cadmiumsulfat ($3\,CdSO_4 . 8\,H_2O$) werden in 63,5 ccm 1n Schwefelsäure gelöst, worauf mit Wasser auf 1 Liter aufgefüllt wird.
7. 0,275n Natronlauge. (Natriumhydroxyd z. Anal. „aus Natrium").
8. 0,275n Schwefelsäure.
9. Reinstes, gepulvertes Bariumcarbonat.

### Ausführung der Methode.

Die Blutprobe, welche nach den oben (S. 8) gemachten Angaben in Papierblättchen aufgesogen und gewogen wird, wird in ein Reagensglas gebracht, das 4 ccm der sauren Cadmiumsulfatlösung (6) enthält. (Der Blutzuckergehalt bleibt in dieser Lösung bei Zimmertemperatur nach Miller und van Slyke 3 Stunden lang unverändert.) Zu der Blutlösung gibt man 2 ccm 0,275n Natronlauge (7) und schüttelt gut durch. (Stabilität der Lösung bei Zimmertemperatur mindestens vier Stunden.) Dann erhitzt man 3 Minuten in einem kochenden Wasserbade, kühlt 2 Minuten in fließendem Wasser ab und gibt etwa 0,3 g gepulvertes Bariumcarbonat hinzu. Das Reagensglas wird 10 bis 12 Sekunden geschüttelt; dann wird durch reine Watte in eins der üblichen weiten Reagensgläser filtriert und 3mal mit je 4 ccm Wasser ausgewaschen. Zum Filtrat fügt man 2 ccm Kaliumferricyanidlösung (1), mischt gut durch, erhitzt im kochenden Wasserbade 15 Minuten und kühlt in fließendem Wasser 3 Minuten ab. Dann setzt man 1 ccm 18n Schwefelsäure sowie 7 Tropfen Indikator zu und titriert mit 0,002754n Cerisulfatlösung. Der Endpunkt der Titration ist erreicht, wenn ein scharfer Umschlag von goldgelb in braun eintritt. Die Titration muß innerhalb einer Stunde nach erfolgter Reduktion ausgeführt werden, da bei längerem Stehenlassen das gebildete Ferrocyanid durch den Sauerstoffgehalt der Luft teilweise wieder zu Ferricyanid oxydiert wird, so daß man in diesem Falle zu niedrige Werte erhalten würde.

Zur Bestimmung des Blindwertes geben Miller und van Slyke 2 ccm 0,275n Natronlauge, 2 ccm 0,275n Schwefelsäure, 14 ccm Wasser und 0,3 g Bariumcarbonat zusammen; dann wird 12 Sekunden geschüttelt. Etwa 15 ccm der überstehenden Flüssigkeit werden durch Watte filtriert; das Filtrat wird weiter behandelt wie die eigentliche Analyse. Der Zusatz von Cadmiumsulfat wird von den Autoren unterlassen, da dieses auf den Blindwert keinen Einfluß hat und das sich bildende Cadmiumhydroxyd die Filtration sehr verlangsamen würde. Wir sind diesem Vorschlage von Miller und van Slyke nicht gefolgt. Die von uns verwendeten

Bang schen Blättchen haben einen erheblichen Einfluß auf den Blindwert. Die Menge der in ihnen enthaltenen reduzierenden Substanzen wäre möglicherweise bei der Ausführung des Blindversuches nach den Angaben der amerikanischen Autoren nicht exakt erfaßt worden. Wir bestimmten deshalb den Blindwert so, daß wir Reagensgläser, die 4 ccm Cadmiumsulfatlösung (6) enthielten, mit leeren Papierblättchen beschickten und diese Blindproben genau so weiter behandelten wie die eigentliche Analyse. Diese Blindproben verbrauchten durchschnittlich bei der Titration 0,3 bis 0,4 ccm 0,002754n Cerisulfatlösung = 30 bis 40 mg% Zucker.

Die Berechnung der in der Blutprobe enthaltenen Zuckermenge gestaltet sich nach dem oben Gesagten sehr einfach:

$$\frac{a - b}{c} \cdot 10\,000 = \text{mg\% Zucker.}$$

In dieser Formel ist:

a = bei der Analyse verbrauchte ccm 0,002754n Cerisulfatlösung;
b = beim Blindwert verbrauchte ccm 0,002754n Cerisulfatlösung;
c = Einwage in mg.

*Vergleich der Methode von Hagedorn und Jensen mit der Methode von Miller und van Slyke.*

Zum Vergleich der beiden Methoden stellten wir zunächst mehrere Standardlösungen von steigendem Glukosegehalt her und untersuchten diese nach den beiden Methoden. Die hierzu verwandte Glukose (Saccharum amylaceum purissimum anhydricum, E. Merck, Darmstadt) war praktisch aschefrei und hatte einen Wassergehalt von 0,2%. Wir analysierten insgesamt 10 Glukoselösungen.

Pro 100 ccm Lösung enthielten:

| | | | |
|---|---|---|---|
| Lösung | I | 28,0 mg | Glukose |
| „ | II | 50,0 „ | „ |
| „ | III | 93,4 „ | „ |
| „ | IV | 102,6 „ | „ |
| „ | V | 127,9 „ | „ |
| „ | VI | 263,0 „ | „ |
| „ | VII | 279,2 „ | „ |
| „ | VIII | 303,1 „ | „ |
| „ | IX | 356,0 „ | „ |
| „ | X | 781,0 „ | „ |

Die Ergebnisse unserer Analysen sind in Tabelle I wiedergegeben.

Aus der Tabelle I ergibt sich, daß bei Lösungen, die bis zu etwa 300 mg Zucker pro 100 ccm enthalten, nach beiden Methoden etwa dieselben Werte erhalten werden. Aus den Analysenwerten für Lösung IX und X ist ersichtlich, daß nach der Methode von Hagedorn und Jensen bei Zuckerlösungen, die über 300 mg%ig sind, sehr abweichende Werte gegenüber den theoretisch berechneten erhalten werden. Besonders auffallend ist dieser Fehler bei Lösung X, wo nach der Methode von Hage-

Tabelle I

*Glukoselösungen*

*Methode nach Hagedorn-Jensen.*

| Lösung Nr. | Versuch Nr. | Zur Analyse verwendete mg-Lösung | Verbr. ccm n/200 $Na_2S_2O_3$ | mg% Zucker gefunden | mg% Zucker Mittelwert | mg% Zucker berechnet | Differenz d. Mittelwertes in mg% |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| I | 1 | 114,5 | 1,72 | 25 | 27 | 28 | — 1 |
| | 2 | 117,9 | 1,70 | 28 | | | |
| II | 3 | 118,7 | 1,54 | 52 | 52 | 50 | + 2 |
| | 4 | 102,8 | 1,59 | 52 | | | |
| III | 5 | 81,8 | 1,46 | 92 | 92 | 93,4 | — 1,4 |
| | 6 | 105,0 | 1,36 | 92 | | | |
| IV | 7 | 63,3 | 1,51 | 101 | | | |
| | 8 | 105,7 | 1,27 | 101 | 102 | 102,6 | — 0,6 |
| | 9 | 74,4 | 1,44 | 104 | | | |
| V | 10 | 116,0 | 1,04 | 125 | | | |
| | 11 | 96,6 | 1,18 | 124 | 125 | 127,9 | — 2,9 |
| | 12 | 112,1 | 1,06 | 126 | | | |
| VI | 13 | 104,3 | 0,44 | 251 | 252 | 263 | — 11 |
| | 14 | 101,1 | 0,48 | 252 | | | |
| VII | 15 | 90,0 | 0,51 | 273 | | | |
| | 16 | 110,3 | 0,26 | 268 | 274 | 279,2 | + 5,2 |
| | 17 | 103,7 | 0,29 | 280 | | | |
| VIII | 18 | 95,1 | 0,30 | 300 | | | |
| | 19 | 92,4 | 0,34 | 300 | 299 | 303,1 | — 4,1 |
| | 20 | 101,6 | 0,22 | 297 | | | |
| IX | 21 | 110,1 | 3,63 | 391 | 388 | 356 | + 32 |
| | 22 | 112,1 | 3,63 | 384 | | | |
| X | 23 | 96,7 | 1,34 | 898 | 895 | 781 | +114 |
| | 24 | 95,9 | 1,36 | 891 | | | |

Tabelle I (Fortsetzung).

*Methode nach Miller und van Slyke.*

| Lösung Nr. | Versuch Nr. | Zur Analyse verwendete mg-Lösung | Verbr. ccm 0,002754n Cerisulfatlösung | mg% Zucker gefunden | mg% Zucker Mittelwert | mg% Zucker berechnet | Differenz d. Mittelwertes in mg% |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| I | 1 | 129,8 | 0,47 | 36 | 35 | 28 | + 7 |
| | 2 | 124,0 | 0,41 | 33 | | | |
| II | 3 | 109,1 | 0,57 | 52 | 50 | 50 | 0 |
| | 4 | 102,7 | 0,49 | 48 | | | |
| III | 5 | 93,2 | 0,89 | 96 | 97 | 93,4 | + 3,6 |
| | 6 | 96,1 | 0,93 | 97 | | | |
| IV | 7 | 87,2 | 0,82 | 94 | | | |
| | 8 | 98,1 | 0,98 | 100 | 101 | 102,6 | — 1,6 |
| | 9 | 128,6 | 1,39 | 108 | | | |
| V | 10 | 96,1 | 1,15 | 120 | | | |
| | 11 | 99,3 | 1,25 | 126 | 123 | 127,9 | — 4,9 |
| | 12 | 121,8 | 1,48 | 122 | | | |
| VI | 13 | 98,0 | 2,52 | 258 | 255 | 263 | — 8 |
| | 14 | 120,8 | 3,03 | 251 | | | |
| VII | 15 | 92,0 | 2,43 | 264 | | | |
| | 16 | 105,3 | 2,74 | 260 | 262,6 | 279,2 | —16,6 |
| | 17 | 97,9 | 2,58 | 264 | | | |
| VIII | 18 | 121,3 | 3,46 | 285 | | | |
| | 19 | 87,3 | 2,48 | 284 | 286 | 303,1 | —17,1 |
| | 20 | 104,9 | 3,04 | 290 | | | |
| IX | 21 | 116,2 | 4,00 | 344 | 351 | 356 | — 5 |
| | 22 | 91,4 | 3,27 | 358 | | | |
| X | 23 | 93,5 | 7,02 | 753 | 767 | 781 | —14 |
| | 24 | 116,3 | 9,08 | 781 | | | |

dorn und Jensen bei der üblichen Berechnungsmethode nach der von den Autoren angegebenen Tabelle 114 mg% Zucker zuviel gefunden werden. Wir finden also auch bestätigt, daß bei der Methode von Hagedorn und Jensen der Ferricyanidverbrauch dem Zuckergehalt der Lösung nicht direkt proportional ist. (Vgl. auch S. 6.)

Zum weiteren Vergleich der beiden Methoden bestimmten wir den Blutzuckergehalt einer Reihe von nüchternen Kaninchen. Das Gewicht der Tiere schwankte zwischen 3 und 4 kg. Sie wurden einer gleichbleibenden Diät unterworfen; d. h. sie bekamen stets frisches Futter in Form von Rüben und Kohl. 18 Stunden vor dem Versuch wurde ihnen die Nahrung fortgenommen, so daß sie praktisch immer unter denselben Bedingungen in den Versuch kamen. Die Blutentnahme geschah aus der Ohrvene. Die Entnahmen, von denen wir stets je zwei vornahmen, wurden möglichst schnell durchgeführt, damit nicht während des Aufsaugens des Blutes in das Papierblättchen eine Bluteindickung durch Verdunstung stattfand. Ferner wurde ein gewaltsames Hervorpressen von Blutstropfen vermieden, da sich sonst naturgemäß durch Beimengungen von Gewebsflüssigkeit falsche Werte ergeben haben würden.

Die Ergebnisse der Versuche gibt Tabelle II wieder.

Tabelle II:
*Nüchternblutzuckerwerte beim Kaninchen.*

| Kaninchen Nr. | mg% Zucker, gefunden nach Hagedorn u. Jensen | Miller u. van Slyke | Differenz in mg% |
|---|---|---|---|
| 1 . . . | 116 | 125 | — 9 |
| 2 . . . | 112 | 98 | + 14 |
| 3 . . . | 117 | 106 | + 11 |
| 4 . . . | 102 | 97 | + 5 |
| 5 . . . | 151 | 140 | + 11 |
| 6 . . . | 106 | 113 | — 7 |
| 7 . . . | 99 | 100 | — 1 |
| 8 . . . | 99 | 88 | + 11 |
| 9 . . . | 110 | 115 | — 5 |
| 10 . . . | 117 | 113 | + 4 |
| 11 . . . | 106 | 110 | — 4 |
| 12 . . . | 122 | 125 | — 3 |
| 13 . . . | 116 | 110 | + 6 |
| 14 . . . | 106 | 94 | + 12 |
| 15 . . . | 115 | 99 | + 16 |
| 16 . . . | 115 | 123 | — 8 |
| 17 . . . | 119 | 130 | — 11 |
| 18 . . . | 71 | 87 | — 16 |
| 19 . . . | 96 | 103 | — 7 |
| 20 . . . | 82 | 75 | + 7 |
| 21 . . . | 80 | 81 | — 1 |
| Mittel: | 107 | 107 | 0 |

Die Differenz der nach der Methode von Miller und van Slyke gegenüber derjenigen von Hagedorn und Jensen gefundenen Werte (Spalte 4 der Tabelle II) schwankt bei den einzelnen Versuchen. Als Mittelwert aus sämtlichen Analysen ergibt sich für den Blutzuckergehalt der von uns untersuchten nüchternen Kaninchen nach der Methode von Hagedorn und Jensen 107 mg% und nach der Methode von Miller und van Slyke ebenfalls 107 mg%. Als Normalwert wird von den meisten Autoren 95 bis 110 mg% angegeben. Die umfassendsten Versuche über den Blutzuckergehalt nüchterner Kaninchen haben Geness und Komissarenko[19] angestellt. Sie bestimmten bei 1020 nüchternen Kaninchen den Blutzuckergehalt und stellten fest, daß dieser in weitem Maße sowohl innerhalb eines Tages als auch ganz besonders im Verlauf von Monaten schwankt. Die Grenzen, in denen sich der Blutzuckerspiegel nüchterner Kaninchen bewegt, betragen nach Geness und Komissarenko 60 und 160 mg%. Als Mittelwert geben die genannten Autoren 108 mg% an.

Zusammenfassend kann über die beiden geprüften Methoden zur Blutzuckerbestimmung folgendes gesagt werden. Die Methode von Hagedorn und Jensen hat trotz ihrer schnellen Durchführbarkeit und der geringen Blutmenge, die sie erfordert, einige Nachteile, die es u. E. angemessen erscheinen lassen, der Methode von Miller und van Slyke den Vorzug zu geben.

Bei der Methode von Hagedorn und Jensen wird der Blutzucker nicht direkt durch eine einzige Messung bestimmt, sondern aus der Differenz der vor und nach der Reduktion vorhandenen Ferricyanidmengen errechnet. Eine solche indirekte Titration erfordert jedoch im Gegensatz zu einer direkten Titration zwei genau eingestellte Lösungen (in diesem Falle genau n/200 Natriumthiosulfatlösung und n/200 Kaliumferricyanidlösung). Naturgemäß weist aber eine derartige Methode gegenüber einer solchen, bei der nur eine Lösung genau eingestellt zu werden braucht, u. U. erhebliche Fehlerquellen auf. Ferner ist die Menge des reduzierten Ferricyanids nicht direkt proportional dem vorhandenen Zucker; es kann also nicht mit einem konstanten Faktor gerechnet werden, sondern die zu den entsprechenden Natriumthiosulfatmengen gehörigen Blutzuckerwerte müssen einer empirisch aufgestellten Tabelle bzw. Kurve entnommen werden. Derselbe Nachteil haftet übrigens auch sämtlichen Modifikationen der Methode von Hagedorn und Jensen an, die es an und für sich erlauben, über 385 mg% Zucker liegende Werte zu bestimmen (Mosonyi [l. c.]; Fujita und Iwatake [l. c.]). Schließlich wird bei der Methode nach Hagedorn und Jensen nicht nur der vergärbare Zucker bestimmt, sondern auch andere im Blut vorkommende, oxydierbare Substanzen (Glutathion, Harnsäure und Kreatinin). So ergibt diese Methode Blutzuckerwerte, die 10 bis 30 mg% höher liegen, als dem vorhandenen, vergärbaren Zucker entspricht. (Hiller, Linder und van Slyke[20].)

Die in der vorliegenden Arbeit geprüfte Methode von Miller und van Slyke bedient sich der Vorteile, welche die Methode von Hagedorn und Jensen aufweist, ohne aber gleichzeitig ihre Nachteile zu

---

[19] S. G. Geness und W. P. Komissarenko: Biochem. Ztschr. *285*, 420 (1936).

[20] A. Hiller, G. C. Linder und D. D. van Slyke: J. biol. Chem. *64*, 625 (1925).

besitzen. Die Methode der amerikanischen Autoren oxydiert den im Blut vorhandenen Zucker ebenfalls durch Ferricyanid; anstatt jedoch das überschüssige Ferricyanid zurückzutitrieren, bestimmt man bei ihr direkt die Menge des gebildeten Ferrocyanids (durch Titration mit Cerisulfatlösung). Es ist deshalb möglich, die Oxydation des Zuckers mit einem großen Überschuß von Ferricyanid, der nicht genau abgemessen zu werden braucht, durchzuführen, so daß man Blutzuckerkonzentrationen bis zu 800 mg% ohne weiteres bestimmen kann. Der Zusatz eines großen Überschusses von Ferricyanid hat außerdem noch den Vorteil, daß man den Blutzuckergehalt über ein sehr weites Intervall hin von sehr niedrigen bis zu sehr hohen Beträgen mit einem konstanten Faktor berechnen kann. Die umständliche Handhabung einer Tabelle wie bei der Methode von Hagedorn und Jensen, die ihrerseits wieder erhebliche Fehlerquellen durch Verrechnen oder falsche Ablesungen haben kann, entfällt hier vollkommen. Die Berechnung ist bei der Methode der amerikanischen Autoren im Gegenteil außerordentlich einfach, da bei Anwendung von 100 mg Blut 0,01 ccm der verwendeten 0,002754n Cerisulfatlösung = 1 mg% Zucker ist. (Vgl. hierzu auch S. 10.) Die einzige genaue Messung, die man bei dieser Methode auszuführen braucht, besteht in der Ablesung der bei der Titration verbrauchten ccm Cerisulfatlösung. Diese Lösung wird durch einfaches Verdünnen aus einer Stammlösung hergestellt, deren Titer außerordentlich lange Zeit konstant bleibt. (Nach Angaben der Autoren 40 Wochen lang; die von uns verwendete Cerisulfatstammlösung blieb im Verlauf von 3 Monaten vollkommen konstant.) Die Enteiweißung des Blutes mit Cadmiumhydroxyd hat außerdem den Vorteil, daß die Menge der im Blut vorhandenen reduzierenden, nicht vergärbaren Substanzen praktisch auf 0 herabgesetzt wird. Fujita und Iwatake (l. c.). Die Entfernung von Spuren noch vorhandenen Cadmiumsulfats, die mit der zugesetzten Ferricyanidlösung einen Niederschlag bilden würden, durch Bariumcarbonat vermeidet eine Störung der Titration.

## ZUSAMMENFASSUNG.

Es wurde ein Vergleich der Methoden zur Blutzuckerbestimmung nach Hagedorn-Jensen und nach Miller-van Slyke durchgeführt. Bei Bestimmungen des Zuckergehaltes reiner Glukoselösungen und des Blutes nüchterner Kaninchen ergab sich, daß nach der Methode von Miller und van Slyke praktisch dieselben Werte erhalten werden wie nach derjenigen von Hagedorn und Jensen. Infolge ihrer einfachen Ausführbarkeit wird die Methode von Miller und van Slyke als Methode der Wahl angesehen.

Zum Schluß möchte ich Herrn Privatdozent Dr. med. H. A. Oelkers für die Überlassung des Themas meinen ergebensten Dank aussprechen. Weiter danke ich Herrn Dr. Vincke herzlich für die gütige Unterstützung bei der Ausführung der Arbeit.

## LEBENSLAUF.

Am 23. März 1909 wurde ich zu Homberg (Bez. Kassel) als Sohn des Bezirks-Feldwebels Wilhelm Lorbach und seiner Ehefrau Martha, geb. Henkel, geboren. Ich besuchte vier Jahre die Bürgerschule in Schmalkalden i. Thür. und weiter das Reform-Realgymnasium zu Eschwege/Werra. 1931 bestand ich am staatlichen Reform-Realgymnasium zu Vacha/Rhön das Abitur. Ich studierte in Marburg Pharmazie und später Medizin und Zahnheilkunde. Ostern 1934 legte ich dort die zahnärztliche Vorprüfung ab und bestand im Winter 1936 in Hamburg das zahnärztliche Staatsexamen.

Reinhard Lorbach.